

DOCKET NO.: 218090US6PCT

**IN THE UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE**

IN RE APPLICATION OF: Thomas WECHSLER et al.

SERIAL NO.: NEW U.S. PCT APPLICATION

FILED: HERewith

INTERNATIONAL APPLICATION NO.: PCT/EP00/06355

INTERNATIONAL FILING DATE: July 5, 2000

FOR: BIOREACTOR

**REQUEST FOR PRIORITY UNDER 35 U.S.C. 119**  
**AND THE INTERNATIONAL CONVENTION**

Assistant Commissioner for Patents  
Washington, D.C. 20231

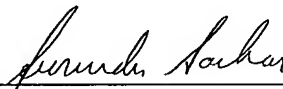
Sir:

In the matter of the above-identified application for patent, notice is hereby given that the applicant claims as priority:

<b><u>COUNTRY</u></b>	<b><u>APPLICATION NO</u></b>	<b><u>DAY/MONTH/YEAR</u></b>
Germany	199 32 439.5	12 July 1999

Certified copies of the corresponding Convention application(s) were submitted to the International Bureau in PCT Application No. PCT/EP00/06355.

Respectfully submitted,  
OBLON, SPIVAK, McCLELLAND,  
MAIER & NEUSTADT, P.C.



Gregory J. Maier  
Attorney of Record  
Registration No. 25,599  
Surinder Sachar  
Registration No. 34,423



22850

(703) 413-3000  
Fax No. (703) 413-2220  
(OSMMN 1/97)



This Page Is Inserted by IFW Operations  
and is not a part of the Official Record

## **BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

- BLACK BORDERS
- TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- FADED TEXT
- ILLEGIBLE TEXT
- SKEWED/SLANTED IMAGES
- COLORED PHOTOS
- BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS
- GRAY SCALE DOCUMENTS

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

As rescanning documents *will not* correct images,  
please do not report the images to the  
Image Problem Mailbox.



PCT HEY 00/06355  
**BUNDESREPUBLIK DEUTSCHLAND**

REC'D 14 AUG 2000

WIPO PCT



4  
#2 EPO - Munich  
40

19. Juli 2000

**10/030697**

EP 00/6355

**Prioritätsbescheinigung über die Einreichung  
einer Patentanmeldung**

**PRIORITY  
DOCUMENT**

SUBMITTED OR TRANSMITTED IN  
COMPLIANCE WITH RULE 17.1(a) OR (b)

**Aktenzeichen:** 199 32 439.5  
**Anmeldetag:** 12. Juli 1999  
**Anmelder/Inhaber:** Sefar AG, Rüschlikon/CH  
**Bezeichnung:** Bioreaktor  
**IPC:** C 12 N 5/08

Die angehefteten Stücke sind eine richtige und genaue Wiedergabe der ursprünglichen Unterlagen dieser Patentanmeldung.

München, den 10. Juli 2000  
Deutsches Patent- und Markenamt

Der Präsident  
im Auftrag

Agurks

S 707

Patent Nr. 3 606 340

## Bioreaktor

Die Erfindung betrifft einen Bioreaktor sowie ein Verfahren zur Kultivierung organischen Materials gemäß dem Oberbegriff der Ansprüche 1 bzw. 12.

Die Kultivierung organischen Materials, vor allem menschlicher oder tierischer Zellen gewinnt in der medizinischen Diagnostik, Therapie und Pharmakologie zunehmend an Bedeutung.

Von besonderem Interesse ist hierbei die Vermehrung von hämatopoetischen Stammzellen. Diese werden einem Patienten vor einer Strahlen- oder Chemotherapie entnommen und sollen in möglichst großer Anzahl dem Patienten nach Abschluß der Strahlen- und Chemotherapie retransplantiert werden.

Bei diesem Verfahren ist unter anderem die Kryokonservierung gebräuchlich, bei welcher entnommene Blutstammzellen während der Dauer der Strahlen- oder Chemotherapie eingefroren werden. Allerdings ist hierdurch keine Anreicherung der Zellen möglich. Vielmehr wird die Anzahl lebender Zellen sowie deren Vitalität deutlich reduziert.

Es wurden bereits Methoden zur Kultivierung und Anreicherung verschiedener Zellen menschlichen Ursprungs entwickelt und etabliert.

Typischerweise werden Zellen in Behältern oder Petrischalen kultiviert, in welchen sich ein für die Kultivierung des jeweiligen Zelltyps geeignetes Nährmedium befindet. Während der Kultivierung sind im allgemeinen mehrere Behandlungsschritte notwendig, wie beispielsweise der Austausch des Nährmediums sowie ein Umsetzen kultivierter Zellen in andere Behältnisse.

Durch das erforderliche mehrfache Eingreifen in den Kultivierungsprozess wächst die Gefahr der Kontamination des Zellmaterials, beispielsweise durch Laborgeräte oder Umgebungsluft, wodurch das zu kultivierende Material für die weitere Verwendung unbrauchbar wird.

Die Handhabung des gesamten Kultivierungsprozesses gestaltet sich insgesamt relativ aufwendig, so daß ein klinischer Einsatz im großen Maßstab kaum durchführbar ist.

Weiter wurde eine Kultivierung von Zellen in Hohlfasern versucht. Die Zellen in den Hohlfasern werden dabei von der Faseraußenseite diffusiv mit Nährstoffen versorgt. Zu Beginn der Zellkultivierung können dabei relativ gute Wachstumsraten erreicht werden, wobei mit zunehmender Anzahl von Zellen in den räumlich begrenzten Hohlfasern eine weitere Vermehrung problematisch wird.

Der Erfindung liegt die **A u f g a b e** zugrunde, eine Vorrichtung und ein Verfahren zur Kultivierung organischen Materials zu schaffen, welche einerseits eine intensive Kultivierung eines organischen Materials erlauben und andererseits besonders einfach und zuverlässig handhabbar sind.

Die Aufgabe wird erfindungsgemäß durch den Bioreaktor mit den Merkmalen des Anspruchs 1 sowie mit dem Verfahren gemäß Anspruch 12 gelöst.

Der erfindungsgemäße Bioreaktor ist dadurch gekennzeichnet, daß eine Strömungserzeugungs-Einrichtung vorgesehen ist, durch welche das Nährmedium in eine Strömung versetzbar ist, daß in der Strömung eine Aufnahmeeinrichtung angeordnet ist, welche zum Aufnehmen und/oder Halten des organischen Materials ausgebildet ist, und daß die Aufnahmeeinrichtung zum Durchleiten des strömenden Nährmediums durchlässig ausgebildet ist.

Ein Grundgedanke der Erfindung liegt in der konvektiven Versorgung des organischen Materials mit Nährmedium. Diese Versorgung kann kontinuierlich oder quasi-kontinuierlich erfolgen. Hierdurch kann eine nahezu optimale Bereitstellung der notwendigen Nährstoffe über die gesamte Zeitspanne der Kultivierung gewährleistet werden, wobei gleichzeitig durch die Strömung des Nährmediums für das Zellwachstum abträgliche Stoffwechselprodukte rasch entfernt werden. Versuche mit hämopoetischen Stammzellen haben hervorragende Wachstums- und Vitalitätsraten erbracht.

Der Bioreaktor umfaßt ein geschlossenes Gehäuse mit einem Zu- und Ablauf und einem Strömungskanal, wobei zur Erzeugung der Strömung ein Gefälle oder gängige Pumpeneinrichtungen, etwa Schlauchpumpen, eingesetzt werden können. Prinzipiell sind aber auch andere Vorrichtungen geeignet, die das Nährmedium in Strömung versetzen können. Die Strömungsgeschwindigkeit und der Durchfluß werden so eingestellt, daß das organische Material in der Aufnahmeeinrichtung weitgehend immobilisiert bleibt.

Mit dem erfindungsgemäßen Bioreaktor wird eine ununterbrochene Versorgung des organischen Materials mit den erforderlichen Nährmedien und Stoffen durch Zuleitung während des gesamten Kultivierungsprozesses ermöglicht, wodurch sich die Handhabung und Durchführung des Kultivierungsprozesses stark vereinfacht. Durch das Wegfallen eines mehrfa-



chen externen Eingreifens in den Kultivierungsprozess sowie der damit verbundenen höheren Kontaminationsgefahr ist der erfindungsgemäße Reaktor insbesondere auch für den klinischen Einsatz in großem Umfang geeignet.

Die gleichmäßig gute Versorgung des organischen Materials mit Nährstoffen erlaubt eine intensive Kultivierung des Materials, wobei Anreicherungswerte der Zellen den Faktor 10 und größer erzielen können. Zum Vergleich werden bei der Kultivierung von Zellen in Kulturbedältern oder Petrischalen trotz eines wesentlich größeren Aufwandes typischerweise Anreicherungsfaktoren lediglich zwischen 2 und 4 erreicht.

Ganz allgemein ist der erfindungsgemäße Bioreaktor zur Kultivierung von verschiedenartigstem organischen Material geeignet. Vorzugsweise handelt es sich hierbei um einfache Strukturen, wie Bakterien, Viren, Pilze oder Körperzellen. Hierzu zählen neben den Stammzellen unter anderem mikro- und makrovaskuläre Endothelzellen aus Milz, Nebenniere und Aorta, unterschiedliche Zelltypen aus der Cornea, Augenlinsen- und Retinazellen, Haut-, Knochen- sowie Knochenmarkzellen. Prinzipiell ist aber auch die Kultivierung komplexer Strukturen, etwa von ganzen Organen oder Teilen davon denkbar.

Eine vorteilhafte Ausführungsform des erfindungsgemäßen Bioreaktors zeichnet sich dadurch aus, daß die Aufnahmeeinrichtung zumindest zwei Trennwandelemente aufweist, durch welche ein Aufnahmeraum umschlossen ist, daß in dem Aufnahmeraum das organische Material angeordnet ist und daß die Trennwandelemente einerseits durchlässig für das Nährmedium und andererseits im wesentlichen undurchlässig für das organische Material ausgebildet sind. Durch die Undurchlässigkeit der Trennwandelemente für das organische

Material wird zum einen eine definierte Immobilisierung des organischen Materials in der Aufnahmeeinrichtung erreicht. Es wird ein Wegspülen des organischen Materials verhindert, da dieses in einem definierten Raum in der Strömung eingeschlossen ist. In diesem definierten Raum, der sich vorzugsweise über den gesamten Strömungsquerschnitt erstreckt und relativ schmal ausgebildet ist, kann sich das organische Material auch in gewissem Umfang bewegen, wodurch sich eine gleichmäßig gute Besiedelung mit Zellen ergibt. Zum anderen ist aufgrund der Durchlässigkeit der Trennwandelemente für das Nährmedium weiter eine gute konvektive Versorgung des organischen Materials und damit eine intensive Kultivierung desselben gewährleistet.

Prinzipiell sind zur Verwendung in den Trennwandelementen verschiedenste Materialien denkbar, die die erforderliche Durchlässigkeit für ein zuzuführendes Medium aufweisen. Sie können z.B. aus Gewebe, Gewirke oder Filzen oder aus anderen permeablen Werkstoffen bestehen.

Besonders bevorzugt ist jedoch, wenn die Trennwandelemente eine Membran aufweisen. Da sich Membranen mit unterschiedlichen Eigenschaften hinsichtlich ihrer Durchlässigkeit sowie ihres selektiven Verhaltens herstellen lassen, kann die Versorgung der im Bioreaktor zu kultivierenden Zellen mit bestimmten Stoffen durch den Einsatz einer entsprechend geeigneten Membran gezielt beeinflusst werden. Darüber hinaus ist auch die mechanische Stabilität der Trennwandelemente durch die Wahl von unterschiedlich verstärkten Membranen gezielt einstellbar und an die jeweiligen Erfordernisse des organischen Materials, z.B. bei adhärenenten Zellen, anpaßbar. Zur Verstärkung der Membran können beispielsweise textile Verstärkungen, wie Gewebe oder Gewirke, dienen. Es ist ein Einsatz organischer oder anorganischer Membranen, beispielsweise aus einem Polymer, Metall oder Keramik oder einer Kombination aus diesen Materialien möglich.

Für eine besonders gute Immobilisierung des organischen Materials ist bei dem erfindungsgemäßen Bioreaktor vorgesehen, daß die Aufnahmeeinrichtung ein Trägerelement aufweist, welches zum Anlagern des organischen Materials ausgebildet ist und für das Nährmedium durchlässig ist. Ein Anlagern des organischen Materials an das im wesentlichen flächige Trägerelement kann durch eine spezielle Struktur des Trägerelementes und/oder durch den Strömungsdruck erreicht werden. Das Trägerelement kann alleine oder bevorzugt in Kombination mit den Trennwandelementen die Aufnahmeeinrichtung bilden. Diese Ausführung eignet sich unter anderem für die Kultivierung von Implantaten, etwa von in vitro-gezüchteten Hautflächen, für welche eine großflächige Anordnung der immobilisierten Zellen erforderlich ist.

Hierbei ist es vorteilhaft, wenn das Trägerelement ein textiles Trägermaterial umfaßt. Durch die entsprechende Wahl, z.B. von Gewebeart und -material, Filamentstärke, Maschenweite und Fadenzahl lassen sich in einfacher Weise für jeden Anwendungsfall ein nahezu ideales Verhältnis zwischen Oberfläche und Reaktorvolumen sowie gute Durchflußeigenschaften für die Nährstoffversorgung der Zellen einstellen. Dies erlaubt eine gezielte Beeinflussung und Förderung der Kultivierung des organischen Materials.

Als textile Trägermaterialien eignen sich hierbei technische Gewebe, Gewirke und Gelege, bei welchen die Struktur aus Monofilamenten oder Drähten exakt definiert wird. Die Monofilamente oder Drähte können beispielsweise aus Metall, Keramik, synthetischen und/oder natürlichen Materialien, wie Zellulose, mit und ohne Oberflächenbeschichtungen bestehen. In bestimmten Fällen sind auch Multifilamentgewebe zweckmäßig, bei welchen die die Gewebestruktur definierenden Fäden ihrerseits aus einer Vielzahl kleinerer Fäden bestehen.

Eine gezielte Einlagerung von Zellen in das Trägerelement kann durch eine dreidimensionale Struktur erreicht werden. Das Trägerelement kann beispielsweise ein sogenanntes dreidimensionales technisches Gewebe sein. Derartige Gewebe weisen zwei oder mehrere übereinanderliegende und zum Teil verbundene oder verwobene Gewebematrizen auf, welche einen sicheren Halt für eingelagertes Zellmaterial bieten. Weiterhin kann eine dreidimensionale Struktur durch Falten, Plissieren oder Rollen eines etwa zweidimensionalen Elements erfolgen. Überdies kann eine Gerüststruktur des Trägerelements oder ein Aufbau aus Strukturelementen, wie zum Beispiel Rohrkörper oder Waben, vorgesehen sein. Schließlich können auch sogenannte non-woven-Materialien und Vliesstoffe zur Anwendung kommen.

Bei der Verwendung von technischen Geweben als Trägerelement ist es von Vorteil, wenn das technische Gewebe oberflächenbehandelt ist und eine bioverträgliche Oberfläche mit einer Struktur für eine Adhäsion des organischen Materials ausgebildet ist. Auf diese Weise läßt sich die Oberfläche eines stabilen Gewebes, etwa aus Polyester, Polyamid, einem Trifluorethylen/Ethylen-Copolymer, Metall oder Keramik, für verschiedene Zwecke gezielt funktionalisieren. So kann das Zellwachstum durch die Erzeugung einer hydrophilen Gewebeoberfläche oder durch die Erhöhung der Konzentration an stickstoffhaltigen funktionellen Gruppen positiv beeinflußt werden. Andere Substanzen, wie z.B. Immunglobulin G (IgG), dagegen werden bevorzugt an hydrophoben Oberflächen adsorbiert.

Eine besonders effektive Oberflächenbehandlung stellen hierbei Niedertemperatur-Plasmaverfahren dar, mit welchen beispielsweise Textilmaterialien aus Polymer, Metall oder Keramik und Membrane gezielt mit einer inerten Oberfläche beschichtet und damit funktionalisiert werden können, ohne

daß das zu behandelnde Gewebe aggressiven Lösungen oder hohen Temperaturen ausgesetzt werden muß. Auf diese Weise lassen sich unterschiedliche Materialeigenschaften, wie z.B. eine hohe mechanische Stabilität eines Trägergrundmaterials systematisch mit gewünschten Oberflächeneigenschaften, wie z.B. Hydrophilie und Zelladhäsion, kombinieren.

Es ist vorgesehen, daß der erfindungsgemäße Bioreaktor als eine Flachzelle aufgebaut ist, bei welcher die Aufnahmeeinrichtung vorzugsweise kreisrund ausgebildet ist. Bei einem kreisrund ausgebildeten Hohlraum in der Flachzelle wird eine besonders gute Strömung und damit eine gleichmäßige Versorgung der zu kultivierenden Zellen mit Nährmedium gewährleistet. Die Flachzelle kann schichtweise, etwa aus verklebten Kunststoffelementen aufgebaut sein, wodurch sich ein kompakter und zugleich einfach herzustellender Bioreaktor ergibt. Die einfache Herstellbarkeit erlaubt sogar den Einsatz des Bioreaktors als Einmalartikel, was für medizinische Anwendungen vorteilhaft sein kann. Gleichzeitig ist die Flachzelle auch so robust, daß eine Sterilisation durch Autoklavieren oder durch  $\gamma$ -Sterilisieren möglich ist. Für das Beimpfen und Ernten größeren organischen Materials, etwa von Implantaten, ist der Bioreaktor montierbar bzw. demontierbar.

Bei einer weiteren Ausgestaltung der Erfindung ist es vorteilhaft, wenn mehrere Flachzellen als Module in einer Strömungsrichtung parallel und/oder seriell angeordnet sind. Hierbei kann das aus einer ersten Flachzelle ausströmende Medium unmittelbar weiteren Flachzellen zugeführt werden, so daß eine besonders effektive Nutzung des Nährmediums sowie eine eventuelle Verwertung von Stoffwechselprodukten einer vorausgehenden Zelle möglich ist. Zweckmäßig ist in der Regel jedoch eine parallele Anordnung, um eventuelle Vergiftungen durch Stoffwechselprodukte auszuschließen.

Schließlich ist der Bioreaktor in einer bevorzugten Ausgestaltung dadurch gekennzeichnet, daß ein geschlossenes Gehäuse vorgesehen ist, in welchem die Aufnahmeeinrichtung angeordnet ist und zumindest ein Zufluß und ein Abfluß für das Nährmedium sowie ein Zugang zum Einbringen und Abführen des organischen Materials vorgesehen sind. Durch das geschlossene Gehäuse ist gewährleistet, daß das Innere, insbesondere die Aufnahmeeinrichtung des Bioreaktors, nach dessen Herstellung und Sterilisierung auch nach Lagerung und Transport noch steril bleibt. Darüber hinaus wird eine kontaminationsfreie Kultivierung des organischen Materials ermöglicht, da die einzelnen Behandlungsschritte, z.B. das Einbringen und Abführen des organischen Materials sowie das Zu- und Abführen des Nährmediums oder anderer Substanzen, bei geschlossenem Gehäuse vorgenommen werden können und so die Gefahr einer Kontamination des organischen Materials stark vermindert werden kann. Durch den einfachen Aufbau des Bioreaktors ist dieser kostengünstig herstellbar und für einen Einsatz als Einmal-Artikel im klinischen Bereich besonders geeignet.

Ein Aspekt des erfindungsgemäßen Verfahrens gemäß Anspruch 12 liegt darin, das in Strömung versetzte Nährmedium durch die das organische Material haltende Aufnahmeeinrichtung hindurchzuleiten. Dadurch ist eine einfach handhabbare und zuverlässige Kultivierung des organischen Materials möglich. Insbesondere ist durch das Durchleiten des Nährmediums durch die Aufnahmeeinrichtung hindurch eine gute Versorgung des daran bzw. darin gehaltenen organischen Materials mit Nährstoffen gewährleistet, da ein beständiges Umspülen oder gegebenenfalls Durchsetzen mit Nährlösung erzielt wird. Die Strömung kann gleichbleibend oder gepulst sein.

Um die Kontaminationsgefahr für das zu kultivierende organische Material besonders gering zu halten, ist es vorteilhaft, wenn vor einem Beimpfen oder Einbringen des organischen Materials in die Aufnahmeeinrichtung diese sterilisiert wird. Die Sterilisation der Aufnahmeeinrichtung kann hierbei z.B. herstellerseitig unmittelbar nach der Herstellung des Bioreaktors vorgenommen werden. Durch geeignete Maßnahmen zum Verschließen des Bioreaktors kann die Sterilität der Aufnahmeeinrichtung dann bis zum Zeitpunkt des Einsatzes bewahrt werden. Es ist aber auch möglich, die Sterilisation der Aufnahmeeinrichtung erst unmittelbar vor dessen Einsatz vorzunehmen. Prinzipiell können aber zur Sicherung einer besonders hohen Kontaminationsfreiheit beide Maßnahmen kombiniert werden. Außerdem ist auch eine Sterilisation des gesamten Bioreaktors denkbar, wenn beispielsweise besonders hohe Anforderung an die Sicherung der Keimfreiheit gestellt werden.

Zur weiteren Vereinfachung des Kultivierungsprozesses ist vorgesehen, daß vor dem Abführen des kultivierten organischen Materials ein Medium, insbesondere eine physiologische Lösung mit einem Enzym, etwa eine Trypsinlösung zum Lösen und Ausspülen des angelagerten organischen Materials eingebracht wird. Hierdurch erübrigt sich ein Eingreifen in den geschlossenen Bioreaktor, wie es beispielsweise bei einem mechanischen Ablösen des angelagerten organischen Materials mit geeigneten Instrumenten erforderlich ist. Neben dieser Vereinfachung der Handhabung läßt sich durch dieses nicht-invasive Ablösen des Materials die Gefahr sowohl einer Kontamination als auch einer mechanischen Beschädigung des Gewebes stark vermindern. Die Spüllösung kann dabei durch denselben Zugang erfolgen, wie die Beimpfung mit organischem Material. Beim Beimpfen und Ausspülen, auch Ernten genannt, wird zweckmäßigerweise die Nährmediumströmung unterbrochen.

Eine vorteilhafte Ausgestaltung des Verfahrens sieht vor, daß die Strömungsrichtung des durch die Aufnahmeeinrichtung geleiteten Nährmediums während der Kultivierung des organischen Materials geändert wird. Hierdurch kann insbesondere bei organischem Material mit großer lateraler Ausdehnung und Dicke eine gute Versorgung der Zellen erreicht werden. Gegebenenfalls auftretende Nährstoffgradienten im Material können auf diese Weise deutlich reduziert werden.

Um eine an den jeweiligen zeitlichen Verlauf des Kultivierungsprozesses angepaßte Versorgung des organischen Materials mit Nährstoffen zu gewährleisten und damit eine intensive Kultivierung desselben zu erzielen, ist bei dem erfindungsgemäßen Verfahren vorgesehen, daß stoffliche Zusammensetzung, stöchiometrische Zusammensetzung, Zustand oder Durchflußgeschwindigkeit des Nährmediums während der Kultivierung geändert werden.

Hierbei ist außerdem von Vorteil, wenn während des Durchleitens des Nährmediums durch die Aufnahmeeinrichtung chemische und/oder physikalische Zustandswerte des Nährmediums gemessen werden, daß die gemessenen Zustandswerte ausgewertet werden und die chemischen und/oder physikalischen Zustandswerte des Nährmediums in Abhängigkeit von den gemessenen Zustandswerten geändert werden. Auf diese Weise lassen sich besonders gut chemische und/oder physikalische Parameter des Nährmediums oder zusätzlicher Nährstoffe an den sich ändernden Bedarf der Zellen im Verlauf des Kultivierungsprozesses anpassen. Es lassen sich auch insbesondere Stoffwechselprodukte des organischen Materials über einen Lactat- oder  $\text{CO}_2$ -Wert im Nährmedium feststellen und zur Steuerung, Überwachung und Dokumentation des Kultivierungsprozesses sehr gut einsetzen. Es kann so



etwa der beste Zeitpunkt zum Ernten ermittelt werden, beispielsweise unmittelbar vor einer unerwünschten Differenzierung bei der Kultivierung von Stammzellen.

Im folgenden wird die Erfindung anhand von Zeichnungen bevorzugter Ausführungsbeispiele näher beschrieben. Es zeigen in einer stark schematisierten Darstellung

- Fig. 1            einen Querschnitt einer bevorzugten Ausführungsform des erfindungsgemäßen Bioreaktors;
- Fig. 2            eine Ansicht auf eine Zusammenstellung einzelner Komponenten eines erfindungsgemäßen Bioreaktors;
- Fig. 3            einen zusammengebauten Bioreaktor, und
- Fig. 4            ein Diagramm einer Anlage mit einem Bioreaktor.

Der in Fig. 1 dargestellte Querschnitt einer bevorzugten Ausführungsform eines erfindungsgemäßen Bioreaktors 10 zur Kultivierung von Stammzellen weist ein Trägerelement 12, davon beabstandete, jeweils zweiteilige Trennwandelemente 11 sowie eine beidseitige Abdeckung 14 auf. Durch die zwischen den einzelnen Elementen vorgesehenen Abstandhalter 16, welche separate Ringelemente oder Teil des Gehäuses sein können, ist eine Einstellung eines gewünschten Abstandes zwischen dem Trägerelement 12 und dem Trennwandelement 11 bzw. zwischen dem Trennwandelement 11 und der Abdeckung 14 möglich.

Die Abdeckungen 14 und die Abstandhalter 16 sind aus Polycarbonat hergestellt. Das Trägerelement 12 ist als technisches Gewebe ausgebildet. Als Fasermaterial wird vorzugsweise ein Monofilament aus Polyamid 6.6 (PA 6.6) oder Polyethylenterephthalat (PET) eingesetzt. Die Maschenweite des Gewebes beträgt durchschnittlich  $20\text{ }\mu\text{m}$  und eine Dicke von etwa 55 bis  $60\text{ }\mu\text{m}$  auf. Das Gewicht des Gewebes liegt bei etwa  $35\text{ bis }40\text{ g/m}^2$ .

Eine Aufnahmeeinrichtung für das organische Material ist durch das Trägerelement 12 und die Trennwandelemente 11 gebildet, welche einen Aufnahmeraum 13 der Aufnahmeeinrichtung seitlich begrenzen. In dem gezeigten Beispiel weisen die Trennwandelemente 12 jeweils eine Membran auf, welche auf einem darunterliegenden Stützgewebe aufgebracht ist. Das Membranmaterial umfaßt Polyamid 66 (PA 66). Als Stützgewebe dienen beispielsweise Monofilamentgewebe aus Polyethylenterephthalat (PET) mit einer Maschenweite von etwa  $265\text{ }\mu\text{m}$ , einer Dicke von etwa  $200\text{ }\mu\text{m}$  sowie einem Gewicht von typischerweise  $85\text{ g/m}^2$ . Typische Membrandicken liegen zwischen  $0,45\text{ }\mu\text{m}$  und  $0,8\text{ }\mu\text{m}$ . Die Abstandhalter 16 weisen zur Beabstandung der einzelnen Elemente des Bioreaktors eine Höhe von etwa 3 mm auf.

Fig. 2 zeigt eine Ansicht auf eine Zusammenstellung einzelner Komponenten des erfindungsgemäßen Bioreaktors 10. Zwischen den beiden Abdeckungen 14 befinden sich mehrere ringförmige Trägerplatten 24, an welchen das Trägerelement 12 bzw. die Trennwandelemente 11 angebracht sind, welche aus einer Membran 11a und einem Stützgewebe 11b bestehen. Die kreisrunden Formen der verwendeten Gewebe bzw. Membranen sind paßgenau ausgeschnitten, beispielsweise mittels eines Lasers, wobei das als technische Gewebe ausgebildete Trägerelement 12 und die Trennwandelemente 11 auf den Trägerplatten 24 mittels unter UV-Licht aushärtbarem Klebstoff befestigt oder angeschweißt sind.

Die ringförmigen Trägerplatten 24 bilden mit den Abdeckungen 14 ein Gehäuse mit Hohlraum, in welchen Leitungen zum Zu- und/oder Abführen von Fluiden münden. Bei dem vorliegenden Ausführungsbeispiel erfolgt die Zuführung des Nährmediums in den Bioreaktor 10 über die Zuführleitung 19, während zum Abführen des Nährmediums die Abfuhrleitung 22 vorgesehen ist. Das Beimpfen des organischen Materials sowie das Zuführen eines enzymhaltigen Mediums zum Lösen des angelagerten organischen Materials erfolgt über zwei Leitungen 21, die in die Aufnahmeeinrichtung des Bioreaktors 10 münden. Zur Entlüftung des Bioreaktors 10 ist an der Trägerplatte 24 mit der Zuführleitung 19 eine Entlüftungsleitung 20 angeordnet.

Wie dieses Ausführungsbeispiel zeigt, übernehmen hier die im wesentlichen gleich aufgebauten Trägerplatten 24 die Funktion der in Fig. 1 dargestellten Abstandhalter 16. Durch Variation der Dicke der einzelnen Trägerplatten bzw. der Abstandhalter 16 kann der Abstand der einzelnen Bestandteile des Bioreaktors 10 an die für die Kultivierung bestimmter organischer Materialien erforderlichen Bedingungen hervorragend angepaßt werden. Eine wesentliche Rolle spielt hierbei das Verhältnis der Reaktoroberfläche zum Reaktorvolumen, welches durch die Wahl der entsprechenden Gewebe einstellbar ist. Im übrigen läßt sich der Abstand zwischen den einzelnen Bestandteilen auch beispielsweise durch das Einlegen unterschiedlicher Dichtungen oder Zwischenplatten leicht verändern, wobei durch lösbare Befestigungsmittel auch eine Demontage möglich ist.

An die Abdeckungen 14 können sich außerdem Temperierkammern (nicht dargestellt) anschließen, welche zur Aufrechterhaltung einer gleichmäßigen Prozeßtemperatur bei der Kultivierung des organischen Materials dienen. Typischerweise verfügen solche Temperierkammern über eine elektrische Heizung und/oder Kühlung oder sind über Zu- und Ableitungen an einem

S 707

## PATENTANSPRÜCHE

1. Bioreaktor zur Kultivierung organischen Materials, insbesondere von Zellen, mittels eines Nährmediums, dadurch gekennzeichnet,
  - daß eine Strömungserzeugungs-Einrichtung vorgesehen ist, durch welche das Nährmedium in eine Strömung versetzbar ist,
  - daß in der Strömung eine Aufnahmeeinrichtung angeordnet ist, welche zum Aufnehmen und/oder Halten des organischen Materials ausgebildet ist, und
  - daß die Aufnahmeeinrichtung zum Durchleiten des strömenden Nährmediums durchlässig ausgebildet ist.
2. Bioreaktor nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet,
  - daß die Aufnahmeeinrichtung zumindest zwei Trennwandelemente (11) aufweist, durch welche ein Aufnahmeraum (13) umschlossen ist,
  - daß in dem Aufnahmeraum (13) das organische Material angeordnet ist und
  - daß die Trennwandelemente (11) einerseits durchlässig für das Nährmedium und andererseits im wesentlichen undurchlässig für das organische Material ausgebildet sind.

3. Bioreaktor nach Anspruch 2,  
dadurch gekennzeichnet,  
daß die Trennwandelemente (11) eine Membran aufweisen.
4. Bioreaktor nach einem der Ansprüche 1 bis 3,  
dadurch gekennzeichnet,
  - daß die Aufnahmeeinrichtung ein Trägerelement (12) aufweist, welches zum Anlagern des organischen Materials ausgebildet ist, und
  - daß das Trägerelement (12) für das Nährmedium durchlässig ist.
5. Bioreaktor nach Anspruch 4,  
dadurch gekennzeichnet,  
daß das Trägerelement (12) ein textiles Trägermaterial umfaßt.
6. Bioreaktor nach Anspruch 5,  
dadurch gekennzeichnet,
  - daß das technische Gewebe oberflächenbehandelt ist und
  - daß eine bioverträgliche Oberfläche mit einer Struktur für eine Adhäsion des organischen Materials ausgebildet ist.
7. Bioreaktor nach einem der Ansprüche 1 bis 6,  
dadurch gekennzeichnet,  
daß dieser als eine Flachzelle (9) aufgebaut ist, bei welcher die Aufnahmeeinrichtung vorzugsweise kreisrund ausgebildet ist.
8. Bioreaktor nach Anspruch 7,  
dadurch gekennzeichnet,  
daß mehrere Flachzellen (9) als Module in einer Strömungsrichtung parallel und/oder seriell angeordnet sind.

9. Bioreaktor nach einem der Ansprüche 1 bis 8,  
dadurch gekennzeichnet,  
daß eine Steuereinrichtung vorgesehen ist, durch  
welche die Strömungserzeugungs-Einrichtung, eine  
Temperatureinstelleinheit, eine Begasungseinheit,  
eine Entgasungseinheit und/oder weitere Versorgungseinheiten steuerbar und/oder regelbar sind.
10. Bioreaktor nach Anspruch 9,  
dadurch gekennzeichnet,
  - daß in einer Strömungsrichtung nach dem Aufnahme-  
raum (13) eine Sensoreinrichtung angeordnet ist,  
durch welche physikalische und chemische Zustands-  
werte des Nährmediums ermittelbar sind und
  - daß die Sensoreinrichtung mit der Steuereinrich-  
tung verbunden ist.
11. Bioreaktor nach einem der Ansprüche 1 bis 10,  
dadurch gekennzeichnet,
  - daß ein geschlossenes, insbesondere demontierbares  
Gehäuse vorgesehen ist, in welchem die Aufnahme-  
einrichtung angeordnet ist, und
  - daß zumindest ein Zufluß und ein Abfluß für das  
Nährmedium sowie ein Zugang zum Einbringen und Ab-  
führen des organischen Materials vorgesehen sind.
12. Verfahren zur Kultivierung organischen Materials,  
insbesondere unter Verwendung des Bioreaktors nach  
einem der vorhergehenden Ansprüche, mittels eines  
Nährmediums,  
dadurch gekennzeichnet,
  - daß das Nährmedium zumindest zeitweise in eine Strö-  
mung versetzt wird,

- daß das organische Material, insbesondere Zellen, in oder an einer Aufnahmeeinrichtung gehalten wird, welche für das Nährmedium durchlässig ausgebildet ist, und
- daß das Nährmedium durch die Aufnahmeeinrichtung hindurchgeleitet wird.

13. Verfahren nach Anspruch 12, dadurch gekennzeichnet, daß vor einem Beimpfen oder einem Einbringen des organischen Materials in die Aufnahmeeinrichtung diese sterilisiert wird.
14. Verfahren nach einem der Ansprüche 12 bis 13, dadurch gekennzeichnet, daß vor einem Abführen des kultivierten organischen Materials aus der Aufnahmeeinrichtung ein Medium, insbesondere ein Enzym, zum Lösen von angelagertem organischen Material eingebracht wird.
15. Verfahren nach einem der Ansprüche 12 bis 14, dadurch gekennzeichnet, daß die Strömungsrichtung des durch die Aufnahmeeinrichtung geleiteten Nährmediums während der Kultivierung des organischen Materials geändert wird.
16. Verfahren nach einem der Ansprüche 12 bis 15, dadurch gekennzeichnet, daß ein chemischer und/oder physikalischer Zustand des Nährmediums, insbesondere eine stoffliche Zusammensetzung, eine stöchiometrische Zusammensetzung, Temperatur, Druck oder Durchflußgeschwindigkeit, im zeitlichen Verlauf der Kultivierung gezielt verändert werden.

17. Verfahren nach einem der Ansprüche 12 bis 15, dadurch gekennzeichnet,
- daß zumindest nach dem Durchleiten des Nährmediums durch die Aufnahmeeinrichtung chemische und/oder physikalische Zustandswerte des Nährmediums gemessen werden,
  - daß die gemessenen Zustandswerte in einer Steuereinrichtung erfaßt und ausgewertet werden, und
  - daß die gemessenen Zustandswerte zur Steuerung und/oder Regelung des Verlaufes der Kultivierung des organischen Materials eingesetzt werden.
18. Verfahren nach einem der Ansprüche 12 bis 17, dadurch gekennzeichnet,
- daß das Nährmedium durch mehrere Aufnahmeeinrichtungen geleitet wird, welche parallel und/oder seriell zueinander angeordnet sind.



### Zusammenfassung

Die Erfindung betrifft einen Bioreaktor sowie ein Verfahren zur Kultivierung organischen Materials, insbesondere von Zellen, mittels eines Nährmediums. Zur intensiven Kultivierung des organischen Materials bei einfacher und zuverlässiger Handhabung ist bei dem erfindungsgemäßen Bioreaktor eine Strömungserzeugungs-Einrichtung vorgesehen, durch welche das Nährmedium in eine Strömung versetzbar ist, wobei in der Strömung eine Aufnahmeeinrichtung angeordnet ist, welche zum Aufnehmen und/oder Halten des organischen Materials ausgebildet ist, und wobei die Aufnahmeeinrichtung zum Durchleiten des strömenden Nährmediums durchlässig ausgebildet ist.

Das erfindungsgemäße Verfahren zeichnet sich dadurch aus, daß das Nährmedium zumindest zeitweise in eine Strömung versetzt wird, daß das organische Material, insbesondere Zellen, in oder an einer Aufnahmeeinrichtung gehalten wird, welche für das Nährmedium durchlässig ausgebildet ist, und daß das Nährmedium durch die Aufnahmeeinrichtung hindurchgeleitet wird.

FIG. 1

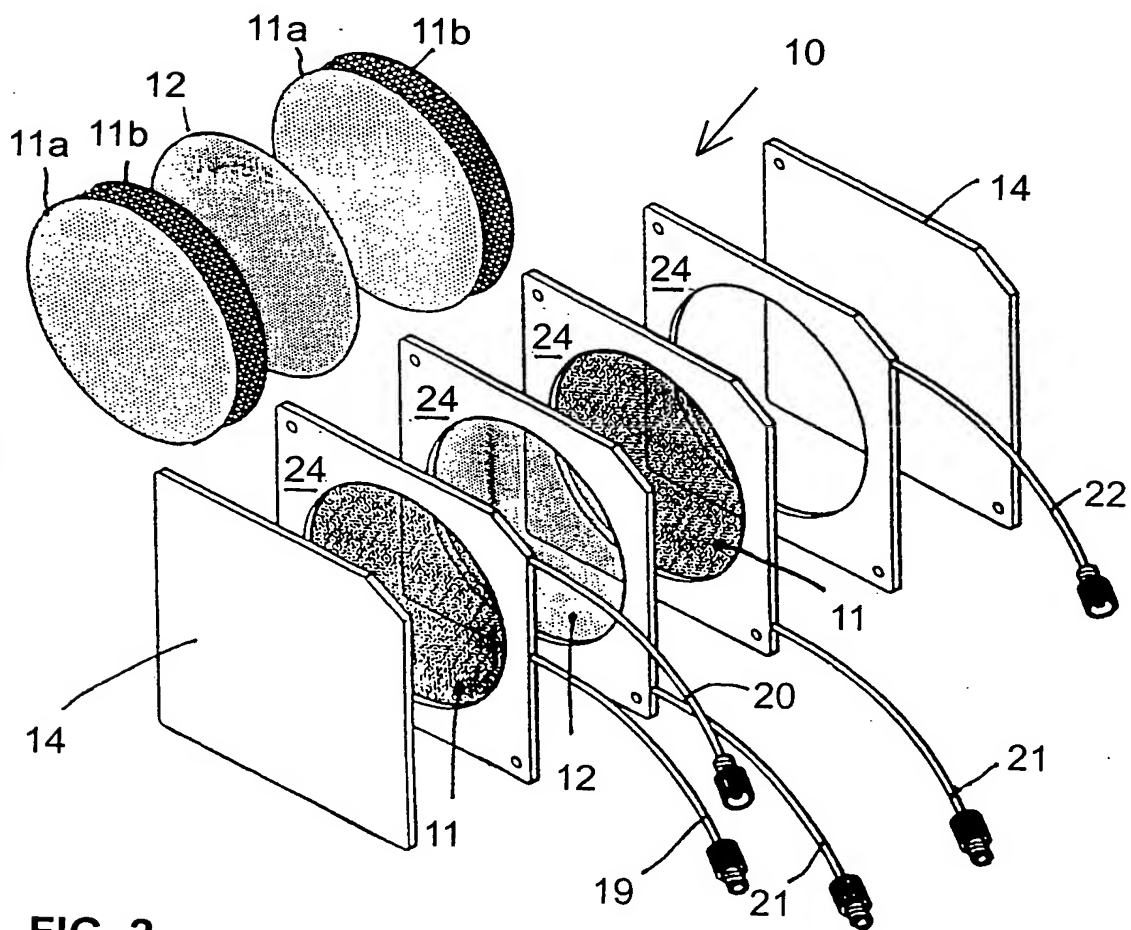
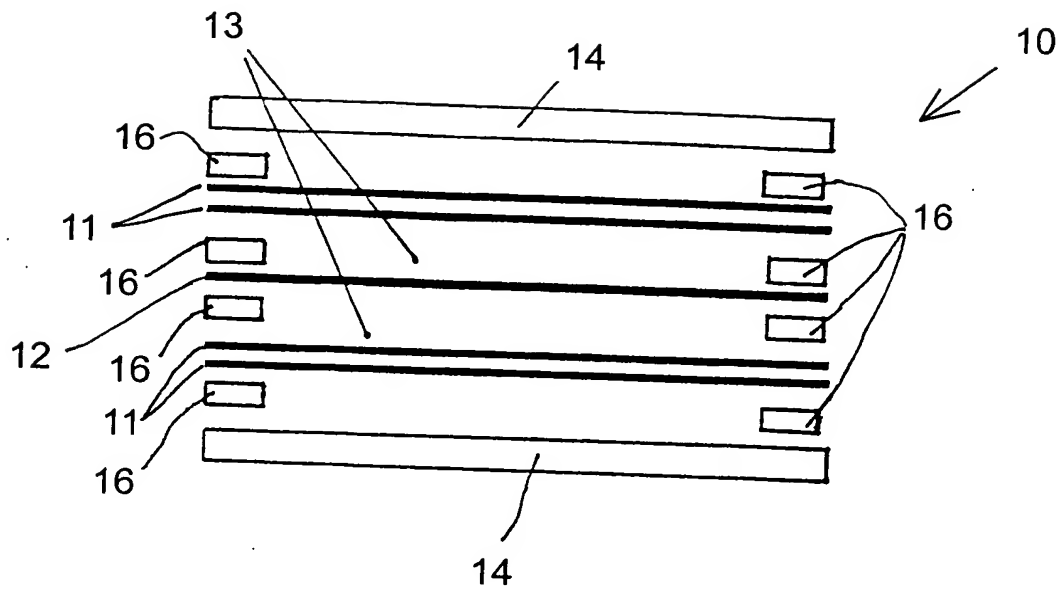


FIG. 2

FIG. 3

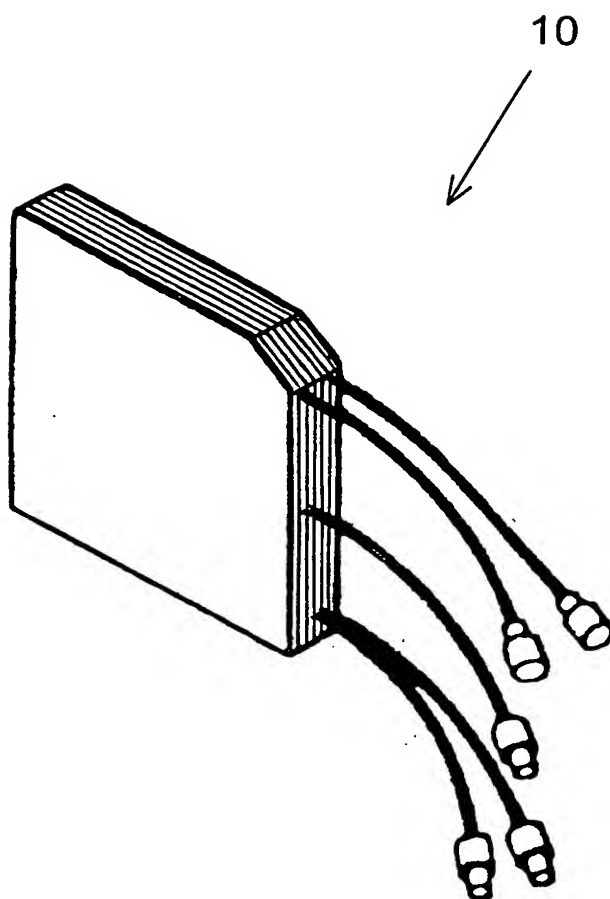


FIG. 4

